

**PENGARUH PENGENCER TRIS KUNING TELUR
DENGAN PENAMBAHAN
EKSTRAK BIJI PINANG (*Areca catechu L.*)
TERHADAP KUALITAS SEMEN BEKU
SAPI LIMOUSIN PENYIMPANAN SUHU -196°C**

SKRIPSI

Oleh :
Arif Pramono
NIM. 145050100111085



**PROGRAM STUDI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

**PENGARUH PENGENCER TRIS KUNING TELUR
DENGAN PENAMBAHAN
EKSTRAK BIJI PINANG (*Areca catechu L.*)
TERHADAP KUALITAS SEMEN BEKU
SAPI LIMOUSIN PENYIMPANAN SUHU -196°C**

SKRIPSI

**Oleh :
Arif Pramono
NIM. 145050100111085**

Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk
memperoleh gelar Sarjana Peternakan pada Fakultas
Peternakan Universitas Brawijaya






**PROGRAM STUDI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

PENGARUH PENGECER TRIS KUNING TELUR DENGAN PENAMBAHAN EKSTRAK BIJI PINANG (*Areca catechu L.*) TERHADAP KUALITAS SEMEN BEKU SAPI LIMOUSIN PENYIMPANAN SUHU -196°C

SKRIPSI

Oleh :
Arif Pramono
NIM. 145050100111085

Telah dinyatakan lulus dalam ujian sarjana
Pada Hari/Tanggal: Senin, 06 Juni 2018

	Tanda tangan	Tanggal
Pembimbing Utama : <u>Dr. Ir. Sri Wahjuningsih, M.Si</u> NIP. 19640110 198802 2 001		12-07-2018
Pembimbing Pendamping : <u>Dr. Ir. Gatot Ciptadi, DESS</u> NIP. 19600512 198701 1 001		11-07-2018
Dosen Penguji : <u>Dr. Ir. Sri Minarti, MP</u> NIP. 19610122 198601 2 001		11-07-2018
<u>Dr. Ir. Mashudi, M. Agr.Sc</u> NIP. 19610519 198802 1 001		03-07-2018
<u>Prof. Dr. Ir. Budi Hartono, MS</u> NIP. 19600128 198701 1 001		29-06-2018

Mengetahui:

Dekan Fakultas Peternakan
Universitas Brawijaya


(Prof. Dr. Agr. Sc. Ir. Suyadi, MS)

NIP. 19620403 1988701 1 001

Tanggal... 16... Juli... 2018



RIWAYAT HIDUP

Arif Pramono, lahir di Pacitan 04 Maret 1996, merupakan anak keempat dari empat bersaudara, lahir dari pasangan suami Alm. Bakri dan Istri Sariyem. Riwayat pendidikan, lulus dari SDN 1 Jatigunung tahun 2008, Lulus SMPN 1 Tulakan Tahun 2011, dan tahun 2014 lulus dari SMAN 2 Pacitan, serta bisa diterima di Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang sebagai mahasiswa melalui jalur SBMPTN (Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri) dengan status bidik misi.

Selama kuliah, Penulis pernah mendapat kesempatan menjadi Asisten praktikum mata kuliah Ilmu Reproduksi Ternak (IRT), Manajemen Reproduksi dan Inseminasi Buatan (MRIB), Penyuluhan dan Teknologi Reproduksi. Penulis juga pernah mendapat kesempatan memenangkan PIMB (Pekan Ilmiah Mahasiswa Baru) Fakultas Peternakan tahun 2014 dan mendapat pendanaan PMW (Program Mahasiswa Wirausaha) tahun 2016. Sebelum mengerjakan tugas akhir, Penulis pernah melakukan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di PT Japfa Comfeed Indonesia Tbk. Unit 08 Hatchery Wonorejo Pasuruan di bawah bimbingan Ir. Nur Cholis, M.Si.

Tugas akhir yang dikerjakan oleh penulis yakni berjudul **Pengaruh Pengencer Tris Kuning Telur dengan Penambahan Ekstrak Biji Pinang (*Areca Catechu L.*) Terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Limousin Penyimpanan Suhu -196°C** dibawah bimbingan Dr. Ir. Sri Wahjuningsih, M.Si dan Dr. Ir. Gatot Ciptadi, DESS. Penulis melakukan penelitian selama \pm 2 bulan di BBIB Singosari.

KATA PENGANTAR

Puji syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas nikmat, rahmat, taufiq dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan Skripsi yang berjudul **Pengaruh Pengencer Tris Kuning Telur dengan Penambahan Ekstrak Biji Pinang (*Areca Catechu L.*) Terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Limousin Penyimpanan Suhu -196°C**. Penulis menyampaikan banyak terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian Skripsi ini dari awal hingga akhir khususnya kepada:

1. Orang tua, Alm. Bapak Bakri, Ibu Sariyem, kakak saya Katon, Ismi dan Ilah serta adik saya Fradina, Ratih dan Yova yang telah mendukung dan mendoakan mulai awal kuliah hingga pengerjaan tugas akhir.
2. Dr. Ir. Sri Wahjuningsih, M.Si., selaku dosen pembimbing utama dan Dr. Ir. Gatot Ciptadi, DESS., selaku dosen pembimbing pendamping atas segala bimbingannya selama penulisan skripsi,
3. Program LPDP yang telah membantu dan memberikan fasilitas untuk terselenggaranya penelitian ini.
4. Prof. Dr. Sc. Agr. Ir. Suyadi, MS., selaku Dekan Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, Dr. Agus Susilo, S.Pt, MP., selaku ketua Program Studi Ilmu Peternakan, Ir. Nur Cholis, MS., selaku Ketua Bagian Produksi Ternak,
5. Dr. Ir. Sri Minarti, MP, Dr. Ir. Mashudi, M.Agr.Sc dan Prof. Dr. Ir. Budi Hartono, MS selaku Dosen penguji sidang Skripsi.

6. Bapak dan Ibu Pegawai Laboratorium BBIB Singosari, Bu Dhanis, Bu Yayuk, Bu Ani, Bu Wiwit, Bu Susiana, Bu Yeni dan Pak Taufiq yang telah membantu dan membimbing selama penelitian.
7. Luqi Mustikaning Ayu yang selalu memotivasi dan mendoakan
8. Anggota tim penelitian yakni Mirza, Siti Makrufah, Dina, Mbak Liza dan Mbak Apri yang telah bekerja sama dalam menyelesaikan penelitian.
9. Dicky, Willy dan Anang yang telah membantu selama penelitian.
10. Sahabat dan teman-teman antara lain Aprilia, Desi, Alfa dan Uzwajul.
11. Pegy Dwi Pamungkas selaku teman kos yang selalu memotivasi.

Penulis berharap Skripsi ini bermanfaat bagi semua pihak dan dapat membantu memberikan kontribusi di bidang peternakan.

Malang, 4 Juni 2018

Penulis

EFFECT OF TRIS YOLK DILUTIONS WITH THE ADDITION OF BETEL NUT EXTRACT ON THE FROZEN SEMEN QUALITY OF LIMOUSINE CATTLE AT TEMPERATURE STORAGE -196°C

Arif Pramono¹⁾, Sri Wahjuningsih²⁾, dan Gatot Ciptadi²⁾

¹⁾Student at Production Department, Animal Science Faculty,
Brawijaya University

²⁾Lecturer at Animal Production, Animal Science Faculty,
Brawijaya University

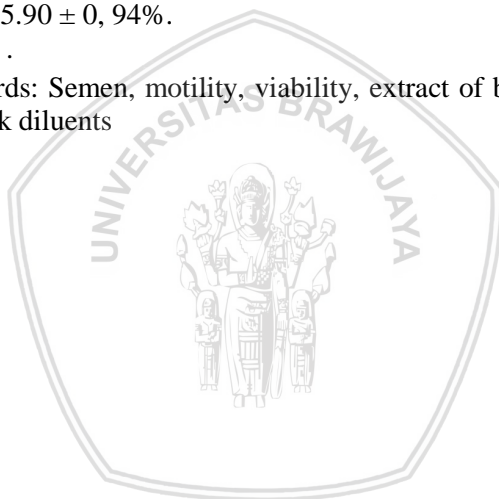
E-mail : Ariframons@gmail.com

ABSTRACT

The research was aimed to find the effect of betel nut extract (*Areca catechu* L.) considered as antioxidant in tris yolk diluents to maintain the quality frozen semen of Limousin cattle at temperature storage -196°C. Materials that used was low-quality semen (motility 40% -50%). Data were analyzed by experimental method with Completely Randomized Design (CRD) with 4 treatments and 10 replications. The 4 treatments such as: T0 (100% tris yolk), T1 (100% tris yolk + 1% betel nut extract), T2 (100% tris yolk + 3% betel nut extract), T3 (100% tris yolk + 5% betel nut extract). The variables were observed include microscopic qualities (individual motility, viability, and abnormality). The result of the variance analysis showed that there was significant effect ($P < 0.05$) of addition betel nut extract (*Areca catechu* L.) on the motility and viability of the frozen semen. While there was no significant difference ($P > 0.05$) on abnormalities frozen semen of Limousin cattle. The mean individual motility percentages after freezing was T0 ($18.5 \pm 4.74\%$), T1 ($25.5 \pm 4.97\%$), T2 ($22.0 \pm 6.75\%$), T3 ($21.0 \pm 3.94\%$). The average

percentage of viability after freezing for each was T0 ($49.67 \pm 3.42\%$), T1 ($54.10 \pm 3.01\%$), T2 ($51.34 \pm 4.93\%$) and T3 ($50.55 \pm 2.33\%$). Abnormalities percentage after freezing were T0 ($6.54 \pm 2.01\%$), T1 ($5.90 \pm 0.94\%$), T2 ($7.58 \pm 1.33\%$), T3 ($7.34 \pm 1.67\%$). It could be concluded that the addition of betel nut extract (*Areca catechu* L.) could maintenance the individual motility and viability but was no effect on sperm abnormalities. T1 (tris yolk + 1% betel nut extract) had an average percentage of individual motility, viability and abnormalities respectively $25.5 \pm 4.97\%$, $54.10 \pm 3.01\%$, $5.90 \pm 0.94\%$.

Keywords: Semen, motility, viability, extract of betel nut, tris egg yolk diluents



**PENGARUH PENGENCER TRIS KUNING TELUR
DENGAN PENAMBAHAN EKSTRAK BIJI PINANG (*Areca catechu L.*) TERHADAP KUALITAS
SPERMATOZOA SAPI LIMOUSIN PENYIMPANAN
SUHU -196°C**

Arif Pramono¹⁾, Sri Wahjuningsih²⁾, dan Gatot Ciptadi²⁾

- 1) Mahasiswa Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya,
Malang
- 2) Dosen Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya, Malang
E-mail : Ariframons@gmail.com

RINGKASAN

Pinang merupakan salah satu tumbuhan yang mengandung zat fenolik dan diketahui mengandung antioksidan dari ekstrak biji pinang, antioksidan bisa dimanfaatkan untuk melindungi kerusakan pada sel akibat oksidasi pada saat proses pembekuan semen, sehingga ekstrak biji pinang ditambahkan di pengencer tris kuning telur diharapkan mampu mempertahankan kualitas semen. Selain itu, pada ekstrak biji pinang juga terdapat arekolin yang diketahui bersifat sitotoksik (racun terhadap sel) jika terdapat dalam jumlah besar. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak biji pinang (*Areca catechu L.*) dalam pengencer tris kuning telur untuk mempertahankan kualitas semen sapi Limousin *post thawing* yang disimpan dalam nitrogen cair -196°C

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 01 November 2017 sampai 10 Januari 2018 di Laboratorium Balai Besar

Inseminasi Buatan (BBIB) Singosari Malang. Materi penelitian yang digunakan yaitu semen segar berkualitas rendah yang berasal dari 5 ekor sapi Limousin dengan umur $8,6 \pm 0,97$ tahun yang dipelihara secara intensif di BBIB Singosari Malang. Penampungan semen rutin dilakukan sebanyak 2 kali dalam seminggu dengan metode vagina buatan. Pengambilan semen sapi Limousin dilakukan secara *purposive sampling*, yaitu menggunakan semen yang memiliki kriteria motilitas individu 40-50% dan motilitas massa ++ (2+). Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratorium dengan menggunakan rancangan percobaan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan masing-masing 10 ulangan. Empat perlakuan yang dicobakan sebagai berikut: P0 (100% Pengencer Tris Kuning Telur), P1 (100% Pengencer Tris Kuning Telur + 1% Ekstrak Biji pinang), P2 (100% Pengencer Tris Kuning Telur + 3% Ekstrak Biji pinang) dan P3 (100% Pengencer Tris Kuning Telur + 5% Ekstrak Biji pinang). Variabel yang diamati adalah kualitas semen secara makroskopis meliputi volume, warna, bau, pH dan konsistensi. Sedangkan kualitas secara mikroskopis meliputi motilitas individu, motilitas massa, kecepatan dan konsentrasi. Pengencer yang digunakan yaitu tris kuning telur dengan penambahan ekstrak biji Biji pinang (*Areca catechu* L.). Biji pinang (*Areca catechu* L.) didapatkan dari Laboratorium Materia Medika Batu. Pembuatan ekstrak tepung biji Biji pinang (*Areca catechu* L.) dilakukan di Laboratorium Biomol Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) Universitas Brawijaya Malang.

Hasil analisis ragam menunjukkan penambahan ekstrak biji pinang ke dalam pengencer tris kuning telur memiliki pengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap motilitas dan

viabilitas semen beku, tetapi tidak berpengaruh ($P>0,05$) terhadap abnormalitas semen beku sapi Limousin. Persentase rata-rata motilitas individu setelah pembekuan pada masing-masing perlakuan adalah P0 ($18,5 \pm 4,74\%$), P1 ($25,5 \pm 4,97\%$), P2 ($22,0 \pm 6,75\%$), P3 ($21,0 \pm 3,94\%$). Persentase rata-rata viabilitas setelah pembekuan untuk masing-masing perlakuan adalah P0 ($49,67 \pm 3,42\%$), P1 ($54,10 \pm 3,01\%$), P2 ($51,34 \pm 4,93\%$) dan P3 ($50,55 \pm 2,33\%$). Persentase abnormalitas setelah proses pembekuan pada masing-masing perlakuan adalah P0 ($6,54 \pm 2,01\%$), P1 ($5,90 \pm 0,94\%$), P2 ($7,58 \pm 1,33\%$), P3 ($7,34 \pm 1,67\%$).

Kesimpulan penelitian ini yaitu penambahan ekstrak biji pinang (*Areca catechu L.*) 1%, 3% dan 5% dalam pengencer tris kuning telur meningkatkan motilitas dan viabilitas kualitas semen beku sapi Limousin, tetapi tidak mempengaruhi abnormalitas spermatozoa. Perlakuan terbaik dari penelitian yakni P1 (Pengencer Tris kuning telur + 1% ekstrak biji pinang), sehingga dapat diterapkan pada semen segar yang memiliki kualitas sesuai standard untuk pembekuan semen.

DAFTAR ISI

Isi	Halaman
RIWAYAT HIDUP	i
KATA PENGANTAR.....	ii
ABSTRACT	iv
RINGKASAN	vi
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
DAFTAR SINGKATAN.....	xv
 BAB I. PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan	3
1.4. Manfaat Penelitian.....	3
1.5. Kerangka Pikir.....	4
1.6. Hipotesis	7
 BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Sapi Limousin.....	8
2.2. Kualitas Semen segar Sapi	9
2.3. Faktor yang Mempengaruhi Kualitas Semen Pengencer Semen.....	9
2.4. Pengencer Semen.....	10
2.5. Pengencer Tris Kuning Telur.....	11
2.6. Buah Pinang (<i>Areca catechu L.</i>).....	13
2.7. Antioksidan.....	14
2.8. Semen Beku	15
2.9. Uji Kualitas Semen	18
2.9.1. Uji Makroskopis.....	18
2.9.2. Uji Mikroskopis	19

BAB III. MATERI DAN METODE

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	21
3.2 Materi Penelitian	21
3.2.1. Alat dan bahan Pembuatan Pengencer Tris Kuning Telur	22
3.2.2. Alat dan Bahan pada Pembuatan Ekstrak Biji pinang (<i>Areca catechu L.</i>).....	22
3.2.3. Alat dan Bahan pada Pengamatan Kualitas Spermatozoa.....	22
3.3 Metode Penelitian.....	23
3.3.1 Penampungan Semen	24
3.3.2 Pemeriksaan Kualitas Semen Segar .	24
3.3.3 Pembuatan Ekstrak Biji pinang	27
3.3.4 Pembuatan Pengencer Tris Kuning Telur	27
3.3.5 Proses Pembuatan Pengencer Perlakuan.....	28
3.3.6 Proses Pengenceran dan Pembekuan Semen.....	28
3.3.7 Kerangka Operasional.....	29
3.4 Variabel Penelitian	30
3.5 Analisis Data	30
3.6 Batasan Istilah	31

BAB IV. PEMBAHASAN

4.1 Evaluasi Kualitas Semen Segar Sapi Limousin	32
4.2 Persentase Motilitas Individu Semen Beku Sapi Limousin Setelah Penyimpanan Suhu -196°C	36

4.3 Persentase Viabilitas Semen Beku Sapi Limousin Setelah Penyimpanan Suhu -196°C.....	41
4.4 Persentase Abnormalitas Semen Beku Sapi Limousin Setelah Penyimpanan Suhu -196°C.....	46

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan.....	50
5.2. Saran.....	50

DAFTAR PUSTAKA	51
-----------------------------	-----------

LAMPIRAN.....	61
----------------------	-----------



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Standard Kualitas Semen Sapi	9
2. Komposisi Bahan Pengencer Tris Kuning Telur 100 ml (BBIB Singosari, 2017).....	22
3. Rataan Hasil Pemeriksaan Semen Segar Sapi Limousin di BBIB Singosari	32
4. Persentase Motilitas Individu Semen Beku Sapi Limousin Penyimpanan Suhu -196°C	37
5. Persentase Viabilitas Semen Beku Sapi Limousin Penyimpanan Suhu -196°C.....	41
6. Persentase Abnormalitas Semen Beku Sapi Limousin Penyimpanan Suhu -196°C.....	46

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka Pikir	6
2. Pejantan Sapi Limousin di BBIB Singosari	9
3. Buah Pinang (<i>Areca catechu</i> L.)	13
4. Kerangka Operasional	29
5. Persentase <i>recovery rate</i> motilitas individu	40
6. Penurunan viabilitas spermatozoa dari <i>before freezing</i> sampai <i>post thawing</i>	44
7. Viabilitas diamati dibawah mikroskop perbesaran 400X.....	45
8. Abnormalitas diamati dibawah mikroskop perbesaran 400X	48

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Data Semen Segar Sapi Limousin di BBIB Singosari.....	61
2. Data dan Analisis Statistik Motilitas <i>Before Freezing</i>	62
3. Data dan Analisis Statistik Viabilitas <i>Before Freezing</i>	64
4. Data dan Analisis Statistik Abnormalitas <i>Before Freezing</i>	66
5.	
6. Data dan Analisis Statistik Motilitas <i>Post Thawing</i>	68
7. Data dan Analisis Statistik Viabilitas <i>Post Thawing</i>	71
8. Data dan Analisis Statistik Abnormalitas <i>Post Thawing</i>	74
9. Dokumentasi Penelitian	76

DAFTAR SINGKATAN

%	= Persen
±	= Kurang lebih
°C	= Derajat Celcius
BBIB	= Balai Besar Inseminasi Buatan
BF	= <i>Before Freezing</i>
BNT	= Beda Nyata Terkecil
C	= Celcius
dkk	= dan kawan-kawan
DMSO	= <i>Dimethylsulfoxside</i>
IB	= Inseminasi Buatan
IVF	= <i>In Vitro Fertilization</i>
MPU	= Membran Plasma Utuh
pH	= <i>potential Hydrogen</i>
PTM	= <i>Post Thawing Motility</i>
RAL	= Rancangan Acak Lengkap
ROS	= <i>Reactive Oxygen Species</i>
rpm	= <i>rotation per minute</i>
RR	= <i>Recovery Rate</i>
UJBD	= Uji Jarak Berganda Duncan

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Inseminasi buatan (IB) merupakan salah satu teknologi reproduksi yang dapat memaksimalkan mutu genetik secara efisien karena mampu memanfaatkan semen pejantan unggul untuk banyak betina dan bisa menghindarkan penularan penyakit kelamin pada sapi (Susilawati, 2013). Keberhasilan IB dipengaruhi oleh beberapa faktor yakni ketrampilan inseminator, kondisi ternak, dan semen beku yang digunakan. Semen beku yang digunakan untuk IB minimal memiliki motilitas 40% (Anonimous, 2017).

Kualitas semen beku dipengaruhi oleh processing semen mulai dari penampungan, pengenceran, ekuilibrase dan pembekuan semen. Selain itu, metode thawing yang digunakan oleh inseminator memiliki peran yang penting dalam menentukan kualitas semen yang akan diinseminasikan ke sapi betina supaya semen memiliki kualitas yang baik dan dapat digunakan untuk inseminasi buatan (Rizal dan Herdis, 2010). Semen beku mempunyai keunggulan yakni dapat digunakan untuk waktu yang lama jika di simpan di nitrogen cair, tetapi memiliki kelemahan yakni mengalami penurunan kualitas setelah proses pembekuan. Penurunan kualitas semen dapat mencapai 40-50% spermatozoa akan mati selama proses pembekuan. Hal ini terjadi karena selama proses pembekuan dan thawing, spermatozoa mengalami perubahan suhu dan osmolaritas yang ekstrim dan memicu produksi *reactive oxygen species* (ROS) (Sukmawati, Arifiantini dan Purwantara, 2014). Selain itu saat pembekuan semen sering terjadi pengeluaran berupa molekul air besar-besaran dari dalam sel sehingga berakibat pada elektrolit intraseluler yang semakin tinggi dan

juga adanya kristal-kristal es yang terbentuk, sedangkan ketika thawing semen mengalami peningkatan suhu drastis yang dapat meningkatkan metabolisme berupa radikal bebas (Rizal dan Herdis, 2010). Sehingga perlu adanya penggunaan pengencer yang mampu melindungi spermatozoa dari cold shock, memiliki daya preservasi yang tinggi, dan mampu mempertahankan kualitas semen.

Pengencer yang digunakan yakni tris kuning telur, karena memiliki bahan atau zat yang diperlukan oleh spermatozoa yang merupakan sumber makanan baginya, antara lain fruktosa, laktosa, rafinosa, asam-asam amino dan vitamin dalam kuning telur sehingga spermatozoa dapat memperoleh sumber energi dalam jumlah yang cukup untuk. Kuning telur merupakan krioprotektan ekstraseluler mengandung lipoprotein dan lesitin yang melindungi membran sel spermatozoa untuk mencegah terjadinya *cold shock* selama pendinginan pada suhu 5°C (Ervandi, Susilawati dan Wahjuningsih, 2013). Selain kuning telur sebagai krioprotektan ekstraseluler, juga dibutuhkan gliserol sebagai krioprotektan intraseluler untuk melindungi sel dari dalam. Penambahan gliserol ke dalam pengencer semen mampu meningkatkan ketahanan sel spermatozoa untuk pembekuan dan mencegah adanya kristalisasi es pada titik beku larutan pengencer. Gliserol mampu menembus ke dalam sel karena memiliki molekul yang lebih kecil, gliserol akan menggantikan air bebas dan mengeluarkannya dari sel sehingga kerusakan spermatozoa lebih sedikit (Ariantie, Yusuf, Sajuthi dan Arifiantini, 2013). Kerusakan selama proses pembekuan dapat diminimalisir dengan penambahan antioksidan yang berasal dari ekstrak biji pinang.

Ekstrak biji pinang memiliki zat fenolik yang diketahui memiliki antioksidan, methanol dari ekstrak biji pinang dari berbagai umur memberikan aktivitas antioksidan yang tinggi

dibandingkan dengan bagian lainnya dari tumbuhan tersebut (daun, ujung batang, dan kulit buah) (Wetwitayaaklung *et al.*, 2006). Sistem pertahanan antioksidan bekerja dengan beberapa cara antara lain, berinteraksi langsung dengan radikal bebas, oksidan, atau oksigen tunggal, mencegah pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS), mengubah senyawa reaktif menjadi kurang reaktif (Winarsi, 2007).

Berdasarkan uraian diatas, maka perlu dilakukan penelitian mengenai kualitas spermatozoa sapi Limousin dengan penambahan ekstrak biji pinang (*Areca catechu L*) pada pengencer tris kuning telur yang disimpan pada suhu -196°C , dengan penambahan ekstrak biji pinang diharapkan menyuplai zat antioksidan sehingga dapat mempertahankan kualitas semen sapi Limousin selama pembekuan dan dapat diaplikasikan untuk inseminasi buatan dan fertilisasi *in vitro*.

1.2. Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh penambahan ekstrak biji pinang (*Areca catechu L.*) sebagai antioksidan dalam pengencer tris kuning telur terhadap kualitas semen sapi Limousin yang di simpan dalam nitrogen cair -196°C ?

1.3. Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak biji pinang (*Areca catechu L.*) dalam pengencer tris kuning telur untuk mempertahankan kualitas semen sapi Limousin *post thawing* yang disimpan dalam nitrogen cair -196°C .

1.4. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini dapat menambah ilmu pengetahuan yang berkaitan dengan ekstrak biji pinang (*Areca catechu L.*)

untuk mempertahankan kualitas spermatozoa sapi, sebagai bahan informasi berbagai penelitian selanjutnya mengenai penambahan ekstrak biji pinang (*Areca catechu* L.) yang berbeda pada level pengencer Tris kuning telur.

1.5. Kerangka Pikir

Pengembangan sumberdaya genetik ternak sapi dapat dilakukan dengan menggunakan teknologi reproduksi yakni inseminasi buatan (IB) dan IVF (*in vitro fertilization*). Inseminasi buatan dapat memanfaatkan semen pejantan sapi Limousin yang unggul secara efisien, karena dalam satu kali ejakulasi sapi, dapat digunakan untuk IB ke banyak betina produktif. Faktor yang mempengaruhi keberhasilan IB yakni keterampilan inseminator, ketepatan dalam deteksi birahi, dan semen beku yang digunakan (Susilawati, 2013). Kualitas semen beku dipengaruhi oleh kualitas semen segar dan pengencer yang digunakan.

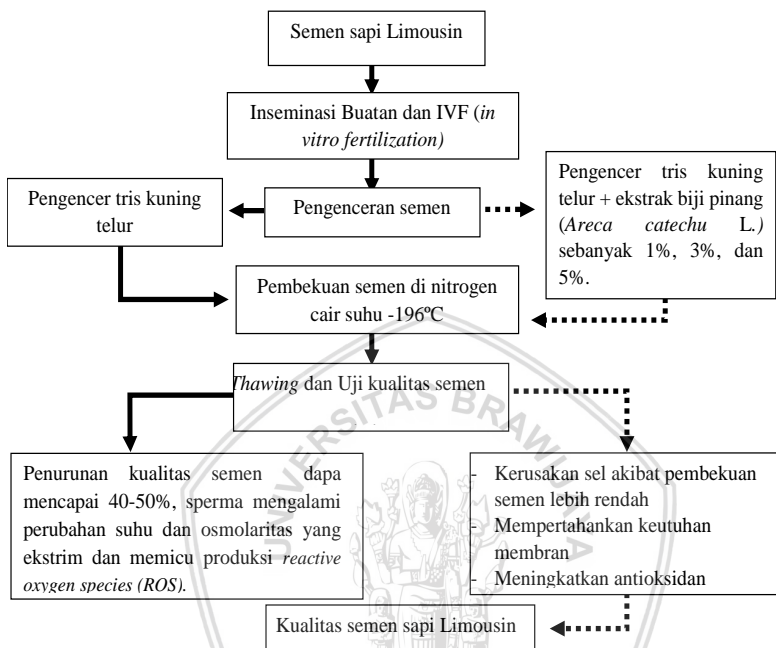
Penurunan kualitas semen dapat mencapai 40-50% spermatozoa akan mati selama proses pembekuan. Pembekuan semen dapat memicu *reactive oxygen species* (ROS), reaksi tersebut dapat menyerang membran plasma spermatozoa yang memiliki fosfolipid dan rentan terhadap radikal bebas. Spermatozoa yang mengalami kerusakan akibat ROS akan mengalami penurunan motilitas, penurunan fertilisasi, dan kerusakan struktur membran plasma (Sukmawati dkk., 2014). Untuk mengurangi penurunan kualitas semen dibutuhkan pengencer yang mampu menjaga kualitas semen sapi Limousin.

Pengencer tris kuning telur memiliki bahan atau zat yang diperlukan oleh spermatozoa yang merupakan sumber makanan bagi selnya, antara lain fruktosa, laktosa, rafinosa, asam-asam amino dan vitamin dalam kuning telur sehingga spermatozoa dapat memperoleh sumber energi dalam jumlah yang cukup

untuk. Kuning telur merupakan krioprotektan ekstraseluler mengandung lipoprotein dan lesitin yang melindungi membran sel spermatozoa untuk mencegah terjadinya *cold shock* (Ducha, Susilawati, Aulani'am dan Wahjuningsih, 2013). Pengencer tris kuning telur yang ditambahkan ekstrak biji pinang memiliki kandungan nutrisi, cryoprotectan, buffer, dan antioksidan yang cukup untuk keberlangsungan hidup spermatozoa sehingga mampu mempertahankan kualitas semen selama pembekuan.

Menurut Meiyanto, Susidarti, Handayani dan Rahmi (2008), kandungan total fenol dan aktivitas antioksidan pada biji pinang diketahui bahwa biji pinang memiliki antioksidan sebanyak 88,16% (Ismail dkk., 2012). Sehingga dengan ditambahkan ekstrak biji pinang ke dalam pengencer tris kuning telur mampu memberikan aktivitas antioksidan dan menjaga kualitas spermatozoa. Menurut Krisyanella, Susilawati dan Rivai (2013), antioksidan flavonoid mampu memberikan kekebalan tubuh yang lebih baik dibandingkan dengan vitamin E. Kerangka pikir penelitian dapat dilihat pada

Kerangka Konsep Penelitian :



Gambar 1. Kerangka pikir penelitian

1.6. Hipotesis

H0 : Penambahan ekstrak biji pinang (*Areca catechu*L.) ke dalam pengencer tris kuning telur tidak mempengaruhi kualitas semen beku sapi Limousin pada penyimpanan suhu -196°C .

H1 : Penambahan ekstrak biji pinang (*Areca catechu* L.) ke dalam pengencer tris kuning telur mempengaruhi kualitas semen beku sapi Limousin pada penyimpanan suhu -196°C .



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Sapi Limousin

Sapi Limousin merupakan keturunan sapi Eropa (*bos taurus*) yang berkembang di Perancis. Karakteristik Sapi Limousin adalah pertambahan badan yang cepat perharinya sekitar 1,1 kg, tinggi mencapai 1,5 m, bulu tebal yang menutupi seluruh tubuh warnanya mulai dari kuning sampai merah keemasan, tanduknya berwarna cerah, bobot lahir tergolong kecil sampai medium (sapi betina dewasa mencapai 575 kg dan pejantan dewasa mencapai berat 1100 kg), fertilitasnya cukup tinggi, mudah melahirkan, mampu menyusui, dan mengasuh anak dengan baik serta pertumbuhannya cepat (Blakely and Bade, 1994). Sapi Limousin merupakan sapi pedaging bertipe besar dan mempunyai volume rumen yang besar. Sapi Limousin keunggulan dari segi pertumbuhan badannya yang sangat cepat. Keunggulan sapi Limousin yakni memiliki pertumbuhan bobot badan yang cepat, memiliki bentuk tubuh yang panjang dan merupakan ternak potong berkualitas baik (Suheryati dan Madi, 2011).

Sapi Limousin mampu memproduksi secara optimal pada daerah yang beriklim temperatur dengan suhu antara 4-15°C dengan mendapat hijauan serta konsentrat yang bernilai tinggi (Meyn, 1991). Menurut Thomas (1991), Sapi Limousin memiliki berat lahir rata-rata 39,95 kg dengan berat sapih pada umur 205 hari yaitu 198 kg. Sapi Limousin termasuk ternak potong berkualitas baik, bentuk tubuhnya panjang, dan tingkat pertumbuhannya tinggi (Suharyati dan Madi, 2011). Sapi Limousin dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Pejantan Sapi Limousin di BBIB Singosari

2.2. Kualitas Semen Segar Sapi

Syarat kualitas semen sapi untuk dilakukan proses pengenceran yaitu harus memiliki motilitas massa minimal 2+ dan motilitas individu $\geq 60\%$ (Susilawati, 2013). Kualitas semen segar sapi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kualitas semen segar sapi

Karakteristik semen	Standard
Makroskopis	
Volume (ml)	4-8 ml
pH	6,2 – 6,8
Warna	Putih kuning, Putih susu
Konsistensi	Sedang
Mikroskopis	
Motilitas massa	++
Motilitas individu (%)	$\geq 60\%$

2.3. Faktor yang Mempengaruhi Kualitas Semen

Kualitas semen akan menurun jika penyimpanan tidak ditambah dengan pengencer yang tepat (Hafez, 2000). Semen yang tidak diencerkan akan sulit mempertahankan hidupnya

lebih dari 24 jam, walaupun disimpan dalam suhu yang rendah. Tujuan pengenceran semen antara lain adalah untuk meningkatkan volume semen dan supaya semen dapat disimpan lama tanpa mengurangi kualitas semen secara signifikan (Hardijanto, Sardjito, Hernawati, Susilowati dan Suprayogi, 2008). Bahan yang dapat digunakan sebagai pengencer harus mampu menyediakan bahan makanan sebagai sumber energi bagi spermatozoa, melindungi spermatozoa dari *cold shock*, sebagai *buffer* atau penyangga untuk mencegah perubahan pH, mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit yang sesuai dan mengandung antibiotik yang dapat mengurangi pertumbuhan bakteri (Toelihere, 1993).

Ratnawati dan Affandhy (2013), menyatakan bahwa salah satu faktor yang berpengaruh terhadap variasi kualitas semen adalah lingkungan, baik yang bersifat sementara atau permanen, selain itu juga malnutrisi dan konsumsi bahan yang beracun dapat berpengaruh besar pada perkembangan testis dan spermatogenesis.

2.4. Pengencer Semen

Semen yang telah ditampung harus segera diencerkan menggunakan pengencer semen yang baik. Semen yang tidak langsung mendapat penanganan dapat menyebabkan kematian yang lebih cepat. Pengenceran semen dapat meningkatkan efisiensi semen pejantan unggul karena dapat digunakan untuk inseminasi buatan ke beberapa ekor ternak betina. Semen yang telah mengalami proses pengenceran dapat disimpan dalam lemari es suhu 3-5°C dan dibekukan pada suhu -196°C.

Penambahan bahan pengencer bertujuan untuk menyediakan sumber energi dan menjamin kelangsungan hidup spermatozoa selama penyimpanan (preservasi) atau pembekuan (kriopreservasi). Syarat penting bahan pengencer

sperma adalah mampu menyediakan zat-zat makanan sebagai sumber energi, mencegah terjadinya *cold shock* sewaktu preservasi dan kriopreservasi, menjaga pH dan tekanan osmotik yang sama dengan sperma. Pengenceran juga dapat memberi perlindungan terhadap *cold shock* yang terjadi saat pembekuan dan sebagai penyanggah untuk menjaga kestabilan pH (Mumu, 2009).

Syarat penting yang wajib dimiliki setiap pengencer adalah: memiliki kemampuan preservasi yang tinggi, mengandung unsur dan sifat kimiawi yang hampir sama dengan semen dan tidak mengandung zat yang bersifat racun bagi spermatozoa dan saluran kelamin betina, tetap dapat mempertahankan daya fertilitas spermatozoa, tidak terlalu kental sehingga tidak menghambat fertilisasi (Susilawati, 2011).

Bahan pengencer yang baik yakni yang mampu mencegah penurunan kualitas spermatozoa, sehingga spermatozoa yang diencerkan mampu memperpanjang masa simpan. Semen yang disimpan dalam suhu 5°C (di simpan dalam *refrigerator*) maupun pada suhu -196°C (nitrogen cair) membutuhkan pengencer yang mampu mempertahankan kualitas semen selama proses penyimpanan (Susilawati, 2013).

2.5. Pengencer Tris Kuning Telur

Pengencer Tris kuning telur memiliki bahan atau zat yang diperlukan oleh spermatozoa yang merupakan sumber makanan bagi selnya, antara lain fruktosa, laktosa, rafinosa, asam-asam amino dan vitamin dalam kuning telur sehingga spermatozoa dapat memperoleh sumber energi dalam jumlah yang cukup untuk. Kuning telur merupakan krioprotektan ekstraseluler mengandung lipoprotein dan lesitin yang melindungi membran sel spermatozoa untuk mencegah terjadinya *cold shock* selama

pendinginan pada suhu 5°C (Ducha, Susilawati, Aulani'am dan Wahjuningsih, 2013).

Tris merupakan larutan yang mengandung asam sitrat dan fruktosa yang berperan sebagai penyangga (buffer), untuk mencegah perubahan pH akibat asam laktat dari hasil metabolisme spermatozoa serta mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit, sumber energi dan melindungi spermatozoa dari kejutan dingin (*cold shock*). Selain itu, tris mempunyai kemampuan dalam memberikan motilitas spermatozoa yang lebih tinggi karena tris lebih banyak mengandung zat – zat makanan, antara lain fruktosa, asam sitrat yang dapat dipanaskan sebagai buffer dan meningkatkan aktifitas spermatozoa (Widjaya, 2011).

Penambahan krioprotektan dalam pengencer dapat melindungi spermatozoa dari efek yang mematikan selama proses pembekuan dengan memodifikasi kristal-kristal es yang terbentuk dalam medium sewaktu pembekuan menjadi lebih kecil sehingga mampu menghambat kerusakan membran sel secara mekanis pada waktu penurunan suhu (*cooling rate*) (Ariantje, Yusuf, Sajuthi dan Arifiantini, 2013).

Salah satu krioprotektan yang digunakan untuk pembekuan semen yakni gliserol. Susilawati (2013), menyatakan bahwa *gliserolisasi* adalah penambahan gliserol pada pengencer dengan konsentrasi tertentu yang berfungsi untuk melindungi efek lethal selama proses pembekuan. Gliserol ditambahkan 2-4 jam sebelum pembekuan agar sel spermatozoa mampu untuk berekuilibrasi dengan gliserol sehingga gliserol mampu bekerja secara optimal.

2.6. Buah Pinang (*Areca catechu* L.)

Pinang (*Areca catechu*) merupakan tanaman yang sekeluarga dengan kelapa. Salah satu jenis tumbuhan monokotil ini tergolong palem-paleman. Secara rinci, sistematik pinang yaitu Divisi : Plantae; Kelas : Monokotil; Ordo : Arecales; Famili : Araceae atau palmae (palem-paleman); Genus : *Areca*; Species : *Areca catechu*. Di masyarakat umumnya spesies ini sering disebut dengan pinang atau pinang sirih (Sihombing, 2000). Gambar buah pinang dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. A) Buah Pinang (*Areca catechu* L.),
B) Biji pinang kering

Biji pinang yang digunakan berasal dari pinang yang kulitnya sudah berwarna kuning atau sudah matang, pemilihan yang pinang matang karena pada biji pinang yang matang memiliki kandungan arekolin yang lebih rendah dibandingkan biji pinang yang masih muda. Dari sekian banyak kandungan kimia yang terdapat dalam pinang, hanya polyphenol dan alkaloid dari golongan piridin yang mendapat perhatian lebih. Arekolin ($C_8H_{13}NO_2$) merupakan alkaloid utama yang terdapat dalam biji pinang, selain arekolidin, arekain, guvakolin, guvasin, dan isoguvasin (Awang, 1986). Arekolin diketahui bersifat sitotoksik (racun terhadap sel) jika dikonsumsi dalam jumlah yang besar (Meiyanto dkk., 2008). Penurunan motilitas

spermatozoa pada tikus putih terjadi akibat penambahan air dan *crude* alkaloid biji pinang berupa arekolin. Penambahan biji pinang juga mengakibatkan adanya penurunan konsentrasi spermatozoa tikus putih. Arekolin dari biji pinang juga menyebabkan terjadinya nekrosis pada sel spermatogonia, sel spermatosit, sel sertoli dan sel leydig ayam jantan. Arekolin sebagai senyawa yang banyak terdapat pada biji pinang juga dapat menyebabkan kerusakan DNA sel-sel germinal. Kerusakan pada DNA dapat memicu terjadinya stres pada sel (Akmal dkk., 2008).

Ekstrak biji pinang mengandung senyawa fenolik yang diketahui memiliki antioksidan, methanol dari ekstrak biji pinang dari berbagai rentan usia memberikan aktivitas antioksidan yang cukup tinggi dibandingkan dengan bagian lainnya dari tumbuhan tersebut (daun, ujung batang dan kulit buah) (Wetwitayaklung *et al.*, 2006). Ekstrak etanol dari *Areca catechu* pada dosis 100 dan 300 mg /kg memiliki efek antiovlasi dan *abortifacient* kondisi ini dikarenakan terjadi penurunan yang signifikan dalam durasi estrus pada 100 mg/kg pada tikus betina (Shrestha *et al.*, 2010).

Hasil pengujian ekstrak metanolik dari sembilan obat tradisional yang digunakan pada obat China sebagai antioksidan melawan *resveratrol* yang bisa dimanfaatkan untuk melindungi kerusakan pada sel akibat oksidasi, hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak dari pinang meningkatkan viabilitas melawan kerusakan oksidatif dari H_2O_2 pada sel paru-paru hamster China (Lee, *et al.*, 2003).

2.7. Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu melawan bahaya dari radikal bebas yang terbentuk dari hasil metabolisme oksidatif, yakni hasil dari reaksi kimia dan proses metabolik

dalam tubuh. Antioksidan berfungsi menghentikan reaksi berantai dari radikal bebas di dalam tubuh, sehingga bisa mempertahankan sel-sel tubuh dari kerusakan radikal bebas (Rohmatussolihat, 2009).

Antioksidan merupakan substansi pada konsentrasi kecil secara signifikan dapat menghambat atau mencegah oksidasi pada substrat. Antioksidan dibagi menjadi 2 yakni antioksidan sintetik dan antioksidan alami. Antioksidan sintetik yang dibolehkan untuk di tambahkan pada makanan, sedangkan antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan adalah senyawa fenolik yang dapat berupa flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol dan asam organik olifungsional (Isnindar, Wahyuono dan Setyowati, 2011).

Flavonoid merupakan antioksidan eksogen yang terbukti memiliki manfaat dalam mencegah kerusakan sel akibat stres oksidatif. Cara kerja flavonoid bisa secara langsung dan tidak langsung. Cara kerja secara langsung yakni mendonorkan ion hydrogen sehingga mampu mencegah efek toksik dari radikal bebas, sedangkan cara kerja tidak langsung yaitu dengan meningkatkan ekspresi gen antioksidan endogen (Sumardika dan Jawi, 2012). Flavonoid memiliki antioksidan yang mampu melindungi kerusakan oksidatif DNA, *inactivating* karsinogen, dan mencegah mutasi gen dan enzim (Petrus, 2013).

Sistem pertahanan antioksidan bekerja dengan beberapa cara antara lain, berinteraksi langsung dengan radikal bebas, oksidan atau oksigen tunggal, mencegah pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS), mengubah senyawa reaktif menjadi kurang reaktif (Winarsi, 2007).

2.8. Semen Beku

Semen beku yakni semen yang telah mengalami proses pengenceran kemudian dibekukan di bawah suhu 0°C atau titik

beku air. Pembekuan semen yakni salah satu usaha untuk memperlama daya hidup spermatozoa, melalui proses pengawetan, dan penyimpanan semen sehingga dapat digunakan untuk jangka panjang (Arifiantini dkk., 2005). Semen beku sapi yakni semen yang berasal dari sapi pejantan yang terpilih, lalu dilanjut ke proses pengenceran sesuai prosedur produksi sehingga menjadi semen beku dan disimpan dengan cara direndam di nitrogen cair pada suhu -196°C pada kontainer (Anonymous, 2017).

Pembekuan semen adalah suatu proses penghentian sementara kegiatan hidup dari sel tanpa mematikan fungsi sel sehingga sel dapat di simpan dalam jangka waktu yang lama. Pembekuan adalah proses pengeringan fisik di bawah titik beku air. Suatu larutan jika dibekukan maka zat pelarutnya berupa air akan membeku dan dapat terbentuk kristal-kristal es. Kristal es yang terdapat pada sel spermatozoa selama pembekuan dapat merusak secara mekanik, sedangkan adanya jumlah elektrolit yang berlebihan dapat melarutkan selubung lipoprotein pada dinding sel spermatozoa, sehingga pada saat *thawing*, permeabilitas sel akan berubah dan mengakibatkan kerusakan spermatozoa (Mumu 2009).

Semen beku mempunyai keunggulan yakni dapat digunakan untuk waktu yang lama jika di simpan di nitrogen cair, tetapi memiliki kelemahan yakni mengalami penurunan kualitas setelah proses pembekuan. Penurunan kualitas semen dapat mencapai 40-50% spermatozoa akan mati selama proses pembekuan). Hal ini terjadi karena selama proses pembekuan dan *thawing* sperma mengalami perubahan suhu dan osmolaritas yang ekstrim dan memicu produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Sukmawati, Arifiantini dan Purwantara, 2014). *Reactive Oxygen Species* (ROS) adalah oksidan yang sangat reaktif dan memiliki aktivitas yang

berbeda dan berdampak negatif karena dapat merusak komponen sel yang sangat penting untuk mempertahankan integritas sel. Setiap ROS yang terbentuk dapat memulai suatu reaksi berantai yang terus berlanjut sampai ROS itu dihilangkan oleh antioksidan (Maslachah, Sugihartuti dan Kurniasanti, 2008)

Selain itu yang menyebabkan kerusakan pada spermatozoa selama proses pembekuan hingga *thawing* adalah peroksidasi lipid. Membran plasma spermatozoa memiliki fosfolipid yang mengandung asam lemak tak jenuh sehingga rentan terhadap terjadinta radikal bebas. Radikal bebas dapat mengakibatkan terjadinya reaksi autokatalitik yang dapat merusak ikatan ganda penyusun membran sel. Peroksidasi lipid yang terjadi secara terus-menerus akan merusak struktur lipid dan mengakibatkan membran sel menjadi tidak stabil dan mengubah fungsi membran spermatozoa. Salah satu ciri kerusakan pada sel spermatozoa akibat peroksidasi lipid adalah terjadinya penurunan motilitas dan fertilitas spermatozoa akibat kerusakan membran plasma (Sukmawati, Arifiantini dan Purwantara, 2014). Radikal bebas yang terjadi pada spermatozoa dapat mengakibatkan sel menjadi cacat, misalnya terjadi abnormalitas pada bagian ekor atau kepala sehingga berpengaruh terhadap motilitas spermatozoa (Ratnawati, Affandhy, Pratiwi dan Prihandini, 2008).

Penambahan krioprotektan di dalam media pengencer seperti gliserol merupakan salah satu alternatif untuk mengatasi rendahnya kualitas semen beku kambing akibat *cold shock*. Hal ini diperkuat dengan pendapat Ariantie, Yusuf, Sajuthi, dan Arifiantini (2013), yang menyatakan bahwa penambahan krioprotektan dalam pengencer dapat melindungi spermatozoa dari efek mematikan dan mencegah terbentuknya kristal es intraseluler. Maka dari itu, diperlukan penelitian mengenai uji

kualitas semen kambing Peranakan Etawah yang dibekukan dengan metode vitrifikasi dengan persentase gliserol yang berbeda (Hikmawan, Ciptadi, dan Wahjuningsih, 2016).

Terdapat dua kelompok krioprotektan yang apabila dilihat dari sifat fisika kimia dan membran selnya yaitu krioprotektan intraseluler dan ekstraseluler. Krioprotektan intraseluler ialah bahan pelindung yang bersifat *permeable* sehingga dapat menembus membran sel karena ukuran molekulnya yang kecil, contohnya adalah *ethylene glycol*, *1,2 propanediol* (PROH), *dimethylsulfoxide* (DMSO) dan gliserol (Elder and Dale, 2011). Krioprotektan ekstraseluler bersifat *nonpermeable* sehingga tidak berdifusi ke dalam sel, contohnya adalah *glycine*, *zwitterions*, *citrate*, dan kuning telur (Gardner, Weissman, Howles, and Shoham, 2009). Adanya krioprotektan sangat mempengaruhi kualitas semen beku yang dihasilkan.

Kualitas semen sebagai salah satu faktor penting dalam keberhasilan IB dipengaruhi oleh proses pengolahan semen mulai dari penampungan, pengenceran, ekuilibrasi dan pembekuan semen. Selain itu, metode *thawing* yang digunakan oleh inseminator sangat berperan dalam menentukan kualitas semen yang akan diinseminasikan. Guna dapat dilakukan inseminasi buatan, kualitas semen beku setelah *thawing* harus mempunyai motilitas minimal 40% (Rizal, dan Herdis, 2010).

2.9. Uji Kualitas Semen

2.9.1. Uji Makroskopis

Uji kualitas semen secara makroskopis dilakukan segera setelah semen ditampung agar kualitas semen tidak menurun drastis. Pemeriksaan makroskopis merupakan pemeriksaan yang meliputi warna, pH, konsistensi dan volume sedangkan pada pemeriksaan secara mikroskopis meliputi motilitas massa, motilitas individu, viabilitas, abnormalitas dan konsentrasi.

Warna dan volume semen dapat dilihat langsung pada *tube collection* berskala, dan pH diuji dengan meneteskan semen ke kertas pH (Susilawati, 2013).

Warna semen segar bangsa sapi Limousin dan Simmental dikategorikan dalam empat warna yaitu cream, putih susu, kuning dan abnormal. Warna putih susu dari semen segar pada kedua bangsa tersebut didukung oleh pendapat Sugiarto dkk., (2014) dan Wahyudi dkk., (2016) menyatakan bahwa warna semen segar sapi Limousin adalah putih susu sedangkan pemeriksaan warna semen segar pada sapi Simmental adalah warna putih susu (Wiratri dkk., 2014). Warna semen putih susu masih dikatakan normal, hal ini didukung oleh pendapat Feradis (2010), bahwa semen sapi normal berwarna putih susu atau krem keputihan dan keruh.

pH merupakan salah satu penentu kehidupan sel spermatozoa, makin tinggi atau rendah pH semen dapat mempengaruhi kematian spermatozoa. pH normal spermatozoa yakni 6-7 (Sujoko, Setiadi dan Boediono, 2009).

2.9.2. Uji Mikroskopis

Motilitas merupakan daya gerak spermatozoa adalah suatu kemampuan sel untuk membuahi ovum. Motilitas dapat diamati dengan mikroskop menggunakan perbesaran 100x (motilitas massa) dan 400x (motilitas individu). Motilitas ditentukan secara keseluruhan atau sebagai rata-rata dari total spermatozoa (Herdis, Kusuma, dan Angga, 2009).

Susilawati (2013) menyatakan kriteria penilaian motilitas massa yakni, +++ (Sangat baik, jika tampak gelombang besar, hitam, tebal dan bergerak sangat cepat), ++ (Baik, terlihat adanya gelombang yang kecil, tipis, jarang dan lebih lamban), + (cukup, tidak adanya gelombang yang terlihat dan hanya ada

gerakan individu yang progresif), 0 (buruk, tidak adanya pergerakan individu).

Viabilitas spermatozoa merupakan daya hidup spermatozoa, spermatozoa hidup dan mati dapat diamati dengan menggunakan pewarna *eosin negrosin*, spermatozoa yang mati akan berwarna merah karena menyerap warna *eosin*, membran sel spermatozoa tidak permeabel terhadap pewarna eosin, sedangkan negrosin memberi latar berwarna biru sampai hitam (Toelihere, 1993).

Abnormalitas adalah salah satu parameter untuk menentukan kualitas spermatozoa, karena bagian abnormalitas pada sel spermatozoa dapat mengganggu dan menghambat fertilisasi, sehingga berakibat pada rendahnya angka kebuntingan yang dihasilkan (Afiati, Yulnawati, Riyadi, dan Arifiantini, 2015). Abnormalitas spermatozoa biasanya disebabkan oleh adanya gangguan dalam proses sekresi spermatozoa di testis. Abnormalitas spermatozoa dapat terjadi ketika proses pembentukan spermatozoa dan selama proses pendinginan semen, selain itu juga bisa disebabkan pada saat proses spermatogenesis yang disebabkan oleh faktor genetik, lingkungan yang kurang sesuai dan penanganan semen yang kurang benar (Yani dan Rizal, 2007).

DAFTAR PUSTAKA

- Afiati, F., Yulnawati, M. Riyadi dan R.I. Arifiantini. 2015. Abnormalitas Spermatozoa Domba dengan Frekuensi Penampungan Berbeda. Pros Semnas Masyarakat Biodiversity Indonesia 1(4): 930-934.
- Aisah, Isnaini dan Wahjuningsih, 2017. Kualitas Semen Segar dan Sapi Bali pada Musim Yang Berbeda. Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan 27 (1): 63 – 79
- Akmal, M., Aulanni'am., Rasmaidar., Dasrul., Siregar, T.N dan Rahmi, E. 2008. Efek Dekok Biji Pinang (*Areca Catechu*) Terhadap Motilitas Spermatozoa Tikus (*Rattus Norvegicus*): Upaya Menemukan Kandidat Antifertilitas Pria. Jurnal Kedokteran Hewan. 2(2):20-24
- Alawiyah, D dan M. Hartono. 2006. Pengaruh Penambahan Vitamin E dalam Bahan Pengencer Sitrat Kuning Telur terhadap Kualitas Semen Beku Kambing Boer. Jurnal Pengembangan Peternakan Tropis. 31(1): 8-14.
- Alfathollah, M., Tjandrakirana dan N. Ducha. 2014. Viabilitas Spermatozoa Sapi Brahman dalam Pengencer CEP-D dengan Perbedaan Kuning Telur Selama Penyimpanan di Refrigerator. LenteraBio.3(3):272-275
- Anonimus. 2012. Persyaratan Mutu Benih, Bibit Ternak dan Sumber Daya Genetik Hewan. Jakarta: Biro Hukum Kementrian Pertanian.

Arientie, O.S., T.L. Yusuf, D.Sajauthi, dan R.I. Arifiantini. 2013. Pengaruh Krioprotektan Gliserol dan Dimethylformamida dalam Pembekuan Semen Kambing Peranakan Etawah Menggunakan Pengencer Tris Modifikasi. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veterinary*.18(4): 239-250

Arifiantini, R. I., T.L. Yusuf dan N. Graha. 2005. Recovery Rate dan Longivitas Pasca Thawing Semen Beku Sapi FH Menggunakan Berbagai Bahan Pengencer. *Bulletin peternakan*. 29(2):53-61

_____, T. Wresdiyati dan E.F. Retnani. 2006. Pengujian Morfologi Spermatozoa Sapi Bali (*Bos Sondaicus*) Menggunakan Pewarnaan “Williams”. *J. Indon. Trop. Anim*. 31(2): 105-110

_____. 2012. *Teknis Koleksi dan Evaluasi Semen pada Hewan*. IPB Press, Bogor.

Aulanni'am., M. Akmal dan Rosmaidar. 2007. Efek Anfertilitas Fraksi Air Biji Pinang (*Areca catechu*) Sebagai Agen Apoptosis Pada Sel-Sel Jaringan Testis *Rattus norvegicus*. *Jurnal Media Kedokteran Hewan*. 23(3):179-183.

Badan Standarisasi Nasional. 2017. *Semen Beku Sapi*. SNI 01-4869.1-2017.
www.bibit.ditjenpkh.pertanian.go.id/files/SNI. Diakses pada 4 maret 2018

- Blakely, J. dan D. H. Bade. 1998. Ilmu Peternakan Cetakan ke-4. Penerjemah : B.Srigandon. Judul buku asli : The Science of Animal Husbandary. 4th. Edition. Penerbit Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Danang, D.R., N. Isnaini dan P. Trisunuwati. 2012. Pengaruh Lama Simpan Semen Terhadap Kualitas Spermatozoa Ayam Kampung dalam Pengencer Ringer's pada Suhu 4°C. Jurnal Ternak Tropika. 13(1):47-57
- Dewi, A.A., Y.S. Ondho dan E. Kurnianto. 2012. Kualitas Semen Berdasarkan Umur Pada Sapi Jantan Jawa. Animal Agriculture Journal. 1(2): 126-133
- Ervandi, M., T. Susilawati dan S. Wahjuningsih. 2013. Pengaruh Pengencer yang Berbeda Terhadap Kualitas Spermatozoa Sapi Hasil Sexing dengan Gradien Albumin (Putih Telur). JITV 18(3): 177-184
- Feradis. 2010. Bioteknologi Reproduksi pada Ternak. Alfabeta. Bandung.
- Gardner, Weissman, Howles, and Shoham, 2009. Textbook Of Assisted Reproductive Technologies. Informa UK Ltd. United Kingdom.
- Garner, D.L., and E.S.E. Hafez. 2008. Spermatozoa and Plasma Semen. In Reproduction in Farm Animal. Hafez E.S.E. and B. Hafez (eds.). 7th ed. Lippincott & Williams. Baltimore, Maryland, USA: 82-95.

- Hardijanto, Susilowati, Hernawati, Sardjito dan Suprayogi. 2010. Buku Ajar Inseminasi Buatan. Surabaya : Airlangga University Press.
- Herawati,T., A. Anggraeni., L. Praharani., D. Utami dan A. Argiris. 2012. Peran Inseminator dalam Keberhasilan Inseminasi Buatan pada Sapi Perah Inseminator *Role In The Success of Artificial Insemination On Dairy Cattle*. Informatika Pertanian. 21(2): 81-88
- Herdis., I. Kusuma., dan I.W. Angga. 2009. Pengaruh Penambahan *A-Tokoferol* pada Media Pengencer Tris Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Cair Domba Garut. Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia. 11(3): 175-180
- Hikmawan, S.W., G. Ciptadi dan S. Wahjuningsih. 2016. Kualitas Spermatozoa *Swim Up* Kambing Peranakan Etawah Hasil Pembekuan Menggunakan Metode Vitrifikasi Dengan Persentase Gliserol Yang Berbeda. J. Ternak Tropika. 17 (1): 42-48
- Husin. N., T. Suteky dan Kususiyah.2007. Uji Kualitas Semen Kambing Nubian dan Peranakannya (Kambing Nubian X PE) serta Kambing Boer Berdasarkan Lama Penyimpanan. Jurnal Sains Peternakan Indonesia.2(2):57-65
- Ihsan, M. 2013. Pembekuan Vitrifikasi Semen Kambing Boer dengan Tingkat Gliserol Berbeda. Jurnal Ternak Tropika. 14(2): 38-45.

- Isnindar, W.W dan E.P. Setyowati. 2011. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antioksidan Daun Kesemek (*Diospyros Kaki Thunb.*) dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). *Majalah Obat Tradisional*.16(03):157-164
- Krisyanella., N, Susilawati dan H, Rivai. 2013. Pembuatan dan Karakterisasi Serta Penentuan Kadar Flavonoid dari Ekstrak Kering Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* L). *Jurnal Farmasi Higea*. 5(1): 9-21
- Maslachah, L., R. Sugihartuti dan R. Kurniasanti. 2008. Hambatan Produksi Reactive Oxygen Species Radikal Superoksida (O_2^-) oleh Antioksidan Vitamin E (α -*tocopherol*) pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Menerima Stressor Renjatan Listrik. *Media Kedokteran Hewan*. 24(1): 21-26
- McPeake, S.R., & J.A. Pennington. Breeding soundness evaluation for beef and dairy bulls. http://www.uaex.edu/other_areas/publications/pdf/fsa-3046.pdf. Diakses pada tanggal 11 Januari 2018.
- Meiyanto, E., R.A Susidarti, S. Handayani dan F. Rahmi. 2008. Ekstrak Etanolik Biji Buah Pinang (*Areca catechu* L.) Mampu Menghambat Proliferasi dan Memacu Apoptosis Sel MCF-7. *Majalah Farmasi Indonesia*. 19(1): 12-19.
- Meyn, K. 1991. The Contribution Of European Cattle Breeding to Cattle Production in The Third World. *Animal Research and Development*. Vol 34. Institute for

Wissen Schafftliche Zusam Menarbeit. Federal Republic of Germany.

- Muada, D.B., U, Paputungan., M.J. Hendrik dan S.H. Turangan. 2017. Karakteristik Semen Segar Sapi Bangsa Limousin dan Simmental di Balai Inseminasi Buatan Lembang. *Jurnal Zootek*. 37(2): 360-369
- Mumu, M.I. 2009. Viabilitas Semen Sapi Simental Yang Dibekukan Menggunakan Krioprotektan Gliserol. *Journal Agroland*. 16 (2) : 172-179.
- Prasetya, A.A., T.R. Tagama, dan D.M. Saleh. 2013. Kualitas Semen Segar Sapi Simmental yang Dikoleksi dengan Interval yang Berbeda di Balai Inseminasi Buatan Lembang. *Jurnal Ilmiah Peternakan*. 1(3): 907-913
- Prayogo, K.U.E., Taswin, R.T dan Maidaswar. 2013. Hubungan Ukuran Lingkar Skrotum dengan Volume Semen, Konsentrasi, dan Motilitas Spermatozoa Pejantan Sapi Limousin dan Semmental. *Jurnal Ilmiah Peternakan*. 1(3): 1050-1056
- Ratnawati, D., L, Affaandhy., W.C, Pratiwi dan P.W, Prihandini. 2008. Pengaruh Pemberian Suplemen Tradisional Terhadap Kualitas Semen Pejantan Sapi Bali (The Effect Of Traditional Supplement In Semen Quality Of Bali Bull). *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan veteriner*.

- Suheryati, S. dan H. Madi. 2011. Preservasi dan Kriopreservasi Semen Sapi Limousin dalam Berbagai Bahan Pengencer. Universitas Lampung. Lampung
- _____ dan Affandhy, L. 2013. Performans Reproduksi Sapi Jantan Dengan Pakan Berbasis Limbah Sawit. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner.
- Rizal, Muhammad dan Herdis.2010. Peranan Antioksidan dalam Meningkatkan Kualitas Semen Beku. Wartazoa. 20(3): 139-145
- Rohmatussolihat. 2009. Antioksidan, Penyelamat Sel-Sel Tubuh Manusia. Biotrends.4(1). www.terbitanbiotek.lipi.go.id/view/pdf. Diakses tanggal 04 maret 2018
- Romadhoni, I., Achadiah, R dan Suyadi. 2009. Kualitas Semen Sapi Madua Setelah Pengenceran dengan Tris Aminomethane Kuning Telur yang Disuplementasi α -Tocopherol Pada Penyimpanan Suhu Ruang. Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan. 24(1): 39-44
- Shrestha.J., T.Shanbhag., S.Shenoy., A.Amuthan., K.Prabhu., S.Sharma., S.Banerjee dan S.Kafle.2010. Antiovolatory and Abortifacient Effect of *Areca cathecu* (betel nut) in female rats. Indian Journal Pharmacol. 42(5): 306-311
- Sihombing. 2000. Teknik Pengelolaan Limbah Kegiatan/Usaha Peternakan. Pusat Penelitian Lingkungan Hidup Lembaga Penelitian, Institut Pertanian Bogor. Bogor

- Sugiarto, N., T. Susilawati dan S. Wahjuningsih. 2014. Kualitas Semen Cair Sapi Limousin Selama Pendinginan Menggunakan Pengencer CEP-2 dengan Penambahan Berbagai Konsentrasi Sari Kedelai. *Jurnal Ternak Tropika*. 15(1): 51-57
- Suharyati, S. dan H. Madi. 2011. *Preservasi dan Kriopreservasi Semen Sapi Limousin dalam Berbagai Bahan Pengencer*. Universitas Lampung. Lampung.
- Sundari, T.W., Taswin, R.T dan Maidaswar. 2013. Korelasi Kadar pH Semen Segar dengan Kualitas Semen Sapi Limousin di Balai Inseminasi Buatan Lembang. *Jurnal Ilmiah Peternakan*. 1(3): 1043-1049
- Suherlan N. E., Soeparna, dan Hidajat, K. 2015. Pengaruh Penambahan Berbagai Tingkat DMF (*Dimethylformamide*) Sebagai Agen Krioprotektan terhadap Keutuhan Membran Plasma dan *Recovery Rate* Semen Beku Domba Lokal. pp. 1-12. Universitas Padjajaran.
- Sujoko, H., M.A, Setiadi dan A. Boediono. 2009. Seleksi Spermatozoa Domba Garut dengan Metode Sentrifugasi Gradien Densitas Percoll. *Jurnal Veteriner*. 10(3):125-132
- Sukmawati, E., R. Arifiantini, dan B. Purwantara. 2014. Daya Tahan Spermatozoa terhadap Proses Pembekuan pada Berbagai Jenis Sapi Pejantan Unggul. *JITV*. 19(3): 168-175

- Sumardika, I.W. dan I.M. Jawe. 2012. Ekstrak Air Daun Ubi Jalar Ungu Memperbaiki Profil Lipid dan Meningkatkan Kadar SOD Darah Tikus yang Diberi Makanan Tinggi Kolesterol. *Jurnal Ilmiah Kedokteran*.43(2):67-70
- Susilawati, T. 2011. *Spermatology*. Universitas Brawijaya Press. Malang
- _____. 2013. *Pedoman Inseminasi Buatan Pada Ternak*. Malang: UB Press. ISBN: 978-602-203-458-2.
- Thomas, V. M. 1991. *Beef Cattle Production*. Wafel and Press. Montana University. USA.
- Toelihere MR. 1993. *Inseminasi Buatan pada Ternak*. Cetakan 3. Bandung: Penerbit Angkasa.
- Wahyudi, F.E., T. Susilawati dan N. Isnaini. 2016. Penggantian Bovine Serum Albumin pada CEP-2 dengan Serum Dara Sapi Limousin pada Suhu Penyimpanan 3-5°C. *Jurnal Ternak Tropika*. 17(2): 8-1
- Waluyo, S.T. 2014. *Reproduksi Aplikatif Pada Sapi*. Bandung. PT. SEWU (Srikandi Empat Widya Utama)
- Wetwitayaklung, P., T. Phaechamud., C. Limmatvapirat and S. Keokitichai., 2006. The Study Of Antioxidant Capacity In Various Parts of *Areca catechu* L. Naresuan Univ. J. 14, 1-14

- Wiratri, V.D.B., T. Susilawati dan S. Wahjuningsih. 2014. Kualitas Semen Sapi Limousin pada Pengencer yang Berbeda Selama Pendinginan. *Journal Ternak Tropika*. 15(1): 13-20
- Widjaya, N. 2011. Pengaruh Pemberian Susu Skim dengan Pengencer Tris Kuning Telur Terhadap Daya Tahan Hidup Spermatozoa Sapi pada Suhu Penyimpanan 5°C. *Sains Peternakan*. 9(2) :72-76

